

	Type	L #	Hits	Search Text	DBs	Time Stamp
1	BRS	L1	30	collagen same "vitamin d.sub.3"	USPAT	2004/03/05 17:37
2	BRS	L2	1109	calcium same coconut adj oil	USPAT	2004/03/05 14:40
3	BRS	L3	118	aloe adj vera same calcium	USPAT	2004/03/05 14:50
4	BRS	L4	6	"4698326"	USPAT	2004/03/05 14:51
5	BRS	L5	11	"5043170"	USPAT	2004/03/05 14:51
6	BRS	L6	11	collagen same "vitamin d.sub.3" same (calcium\$3 or cac1 or "caco.sub.3")	USPAT	2004/03/05 15:05
7	BRS	L7	0	osteoporesis same collagen and (collagen same degrad\$5) and (collage same calcium)	USPAT	2004/03/05 15:06
8	BRS	L8	0	osteoporesis same collagen and (collage same calcium)	USPAT	2004/03/05 15:06
9	BRS	L9	134	(osteoporosis same collagen) and (collagen same calcium)	USPAT	2004/03/05 15:10
10	BRS	L10	105	(osteoporosis) and (composition same collagen same calcium)	USPAT	2004/03/05 16:33
11	BRS	L12	1	(osteoporosis) and (composition same collagen same calcium same (chloride or lactate or carbonate))	USPAT	2004/03/05 15:12
12	BRS	L13	68	(composition same collagen same calcium same (chloride or lactate or carbonate))	USPAT	2004/03/05 15:12
13	BRS	L14	281	"vitamin d.sub.3" same calcium same (chloride or lactate or carbonate)	USPAT	2004/03/05 16:40
14	BRS	L15	30	"vitamin d.sub.3" same collagen	USPAT	2004/03/05 16:37
15	BRS	L16	7	"vitamin d.sub.3" same calcium same (chloride or lactate or carbonate) same osteo\$9	USPAT	2004/03/05 17:20
16	BRS	L17	47	"vitamin d.sub.3" same collagen\$5	USPAT	2004/03/05 16:44
17	BRS	L18	20	"vitamin d.sub.3" same collagen\$5 same (bone or osteo\$9)	USPAT	2004/03/05 16:49

	Comments	Error Definition	Errors
1			0
2			0
3			0
4			0
5			0
6			0
7			0
8			0
9			0
10			0
11			0
12			0
13			0
14			0
15			0
16			0
17			0

	Type	L #	Hits	Search Text	DBs	Time Stamp
18	BRS	L19	0	hydro\$9 adj collagen same osteop\$5	USPAT	2004/03/05 16:50
19	BRS	L20	0	hydro\$9 adj collagen same osteop\$9	USPAT	2004/03/05 16:50
20	BRS	L21	165	collagen same proteolysis	USPAT	2004/03/05 16:50
21	BRS	L22	41	collagen same proteolysis and osteop\$9	USPAT	2004/03/05 16:52
22	BRS	L23	496	collagen same degrad\$5 and osteop\$9	USPAT	2004/03/05 16:52
23	BRS	L24	245178	collagen same degrad\$5 and osteop\$9 adn calcium	USPAT	2004/03/05 16:52
24	BRS	L25	373	collagen same degrad\$5 and osteop\$9 and calcium	USPAT	2004/03/05 16:54
25	BRS	L26	809	hydrol\$8 adj collagen	USPAT	2004/03/05 16:54
26	BRS	L27	30	hydrol\$8 adj collagen same (bone or osteop\$9)	USPAT	2004/03/05 17:01
27	BRS	L28	45	gelatin same "vitamin D.sub.3"	USPAT	2004/03/05 16:58
28	BRS	L29	3	gelatin same "vitamin D.sub.3" and collagen	USPAT	2004/03/05 16:59
29	IS&R	L30	1	("9605851").PN.	USPAT; EPO	2004/03/05 17:02
30	IS&R	L31	1	("5948766").PN.	USPAT; EPO	2004/03/05 17:02
31	BRS	L32	251	"vitamin d.sub.3" same osteop\$9	USPAT	2004/03/05 17:20

	Comments	Error Definition	Errors
18		Truncation Overflow. Return string from Server is: 5`0`0`HYD	1
19		Truncation Overflow. Return string from Server is: 5`0`0`HYD	1
20			0
21			0
22			0
23			0
24			0
25			0
26			0
27			0
28			0
29			0
30			0
31			0

PCT
WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES
Internationales Büro
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM



WO 9605851A1

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : A61K 38/01, 38/23 // (A61K 38/01, 31:57) (A61K 38/01, 33:06) (A61K 38/23, 38:01)		A1	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 96/05851
		(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:	29. Februar 1996 (29.02.96)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP95/03304		(81) Bestimmungsstaaten: AU, CA, FI, JP, NO, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).	
(22) Internationales Anmeldedatum: 19. August 1995 (19.08.95)			
(30) Prioritätsdaten: P 44 29 842.0 23. August 1994 (23.08.94) DE		Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>	
(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): DGF STOESS AG [DE/DE]; Postfach 12 53, D-69402 Eberbach (DE).			
(72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MILAN, Adam [CZ/CZ]; Kubelekova 8, 130 00 Prag 3 (CZ). EGGERSGLÜSS, Bernd [DE/DE]; Wolfsgrubenweg 15, D-69434 Heddesbach (DE). BRÄUMER, Klaus [DE/DE]; Allensteiner Strasse 6, D- 69412 Eberbach (DE). SCHRIEBER, Reinhard [DE/DE]; Rudolf-Epp-Strasse 38, D-69412 Eberbach (DE).			
(74) Anwälte: WERNER, Hans-Karsten usw.; Deichmannhaus am Hauptbahnhof, D-50667 Köln (DE).			
(54) Title: USE OF TASTELESS, HYDROLYSED COLLAGEN AND AGENT CONTAINING THE SAME			
(54) Bezeichnung: VERWENDUNG VON GESCHMACKSNEUTRALEM, HYDROLYSIERTEM KOLLAGEN UND MITTEL EN- THALTEND DASSELBE			
(57) Abstract			
The invention concerns the use of tasteless, hydrolysed collagen from gelatine, of gelatine or collagenic animal connective tissue with an average molecular weight of 1 to 40 kD for preparing osteoporosis treatment agents. It can be combined with conventional agents for combatting osteoporosis, such as calcitonin, calcium salts and/or progesterone.			
(57) Zusammenfassung			
Geschmacksneutrales hydrolysiertes Kollagen aus Gelatine, Gelatine oder tierischen kollagenen Bindegewebe mit einem mittleren Molekulargewicht von 1 bis 40 kD zur Herstellung von Mitteln zur Behandlung von Osteoporose. Es kann kombiniert werden mit herkömmlichen Mitteln zur Bekämpfung der Osteoporose wie Calcitonin, Calciumsalzen und/oder Progesteron.			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AT	Österreich	GA	Gabon	MR	Mauretanien
AU	Australien	GB	Vereinigtes Königreich	MW	Malawi
BB	Barbados	GE	Georgien	NE	Niger
BE	Belgien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	NZ	Neuseeland
BJ	Benin	IE	Irland	PL	Polen
BR	Brasilien	IT	Italien	PT	Portugal
BY	Belarus	JP	Japan	RO	Rumänien
CA	Kanada	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CG	Kongo	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CH	Schweiz	KR	Republik Korea	SI	Slowenien
CJ	Côte d'Ivoire	KZ	Kasachstan	SK	Slowakei
CM	Kamerun	LI	Liechtenstein	SN	Senegal
CN	China	LK	Sri Lanka	TD	Tschad
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Monaco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
ES	Spanien	MG	Madagaskar	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	ML	Mali	UZ	Usbekistan
FR	Frankreich	MN	Mongolei	VN	Vietnam

Verwendung von geschmacksneutralem, hydrolysiertem
Kollagen und Mittel enthaltend dasselbe

Gegenstand der Erfindung sind die Verwendung von geschmacksneutralem, hydrolysiertem Kollagen aus Gelatine, Gelatine oder tierischen kollagenen Bindegewebe mit einem mittleren Molekulargewicht von 1 bis 40 kD sowie Mittel enthaltend dasselbe.

Aus der EP-B-0 254 289 sind bekannt Mittel zur Behandlung von Arthrosen enthaltend geschmacksloses oder geschmacksneutrales, enzymatisch hydrolysiertes Kollagen aus tierischer Haut, tierischen Knochen, ausreichend gereinigtem Bindegewebe oder Gelatine mit einem mittleren Molekulargewicht von 10 bis 80 kD.

Die DE-A-36 26 414 beschreibt ein Präparat zur Stimulierung von Chondrocyten und Osteoblasten (Ossein-Hydroxyapatit-Komplex) sowie Verfahren zu seiner Herstellung und dieses enthaltende Arzneimittel. Das Präparat wird gewonnen durch Reinigen und Mahlen von Knochen und enthält daher natives Kollagen. Wichtigster Bestandteil des Präparates ist jedoch der Ossein-Hydroxyapatit-Komplex mit seinem hohen Gehalt an Calcium und Phosphat.

Die JP-A-05 05 1400 beschreibt die Herstellung eines Präparates aus Zellkulturen von Kaninchenknorpel. Das Kollagen besitzt ein Molekulargewicht von 60 kD und besteht aus dem Typ II.

- 2 -

Die GB-PS-1,227,534 beschreibt die Herstellung eines Kollagenhydrolysats durch alkalische oder saure Druckhydrolyse. Dieses Präparat enthält außer degradiertem Kollagen 4 bis 15 % freie Aminosäuren. Das Ausgangsmaterial wird nicht näher spezifiziert. Dieses Präparat soll vorzugsweise zusammen mit Calciumsalzen zum Einsatz kommen und die Zufuhr erhöhter Calciummengen ermöglichen.

Osteoporose ist definiert als die klinische Manifestation von Knochenschwund. Dies bedeutet eine Reduktion der Knochenmasse bezogen auf das Volumen. Zur Zeit sind über 20 Ursachen für das Auftreten von Osteoporose bekannt. Die am häufigsten auftretende Form ist die postmenopausale und senile Osteoporose. Mit Beginn des fünften Lebensjahrzehnts beginnt die gesamte Knochenmasse sich zu verringern.

Ursache dafür ist die Tatsache, daß dann mehr Knochenmasse abgebaut als aufgebaut wird. Osteoporose ist die am weitest verbreitete Stoffwechselerkrankung des Knochens, welche mit dem Alter zunimmt, und zwar überwiegend bei Frauen.

Drei bis fünf Jahre nach der Menopause tritt gewöhnlich ein plötzlicher Verlust an Knochenmasse auf. Dies manifestiert sich im Auftreten von Frakturen der Wirbelsäule, Brüche des Oberschenkelhalses und des Unterarmes. Zum Zeitpunkt des ersten Auftretens einer Fraktur sind meist nur noch ca. 50 % der Knochenmasse erhalten geblieben.

Die Frühdiagnose von Osteoporose stellt ein großes Problem dar, da man im normalen Röntgenbild erst nach einem Verlust von mindestens 30 % der Knochenmasse etwas erkennen kann.

Bei osteoporotischen Veränderungen wird auch die Menge der Kollagenfasern des Knochens reduziert. Die Abbauprodukte dieses Kollagen-Katabolismus können vermehrt im Urin nachgewiesen werden.

- 3 -

Vom molekularen Standpunkt gesehen, hat der Knochen eine einmalige Kollagenzusammensetzung. Er ist das einzige Gewebe, in welchem Kollagen Typ I nicht von Kollagen Typ III begleitet wird. Die Kollagenstrukturen werden durch Quervernetzungen stabilisiert, die über zwei Aminosäurereste von Lysin und Hydroxylysin erfolgen.

Es sind noch mehrere andere Quervernetzungsmöglichkeiten beschrieben worden. Fujimoto (Biochem. Biophys. Res. Commun. 1977; 76: 1124 - 1129) beschreibt Quervernetzungselemente, die aus 3 Lysin- bzw. Hydroxylysinresten entstanden sind, es sind dies Pyridinolin (PD) und Desoxypyridinolin (DPD).

Ihr Vorkommen ist bindegewebsspezifisch, aber weder auf einen Gewebetyp noch auf einen Kollagentyp beschränkt. Bekannt ist, daß Kollagene des Typs I, II, III, IX, X und XI diese Art der Quervernetzungen ausbilden können.

Diese Quervernetzungsverbindungen werden vom Körper nicht abgebaut und mit dem Urin ausgeschieden. Der Gehalt im Urin ist deshalb ein guter Indikator für den Kollagenabbau.

Mittel zur Behandlung der Osteoporose sind unter anderem Calcitonin, Calciumsalze wie Calciumfluorid und Calciumbisphosphonate sowie Progesteron.

Die vorliegende Erfindung hat sich die Aufgabe gestellt, weitere Mittel zur Behandlung der Osteoporose zur Verfügung zu stellen. Diese Aufgabe konnte jetzt gelöst werden durch die Verwendung von geschmacksneutralem hydrolysiertem Kollagen aus Gelatine, Gelatine oder tierischem kollagenen Bindegewebe mit einem mittleren Molekulargewicht von 1 bis 40 kD zur Herstellung von Mitteln zur Behandlung der Osteoporose. Vorzugsweise stammt das Kollagen aus Haut und weist daher als Hauptkomponenten die Typen I und III auf. Gelatine selbst besitzt meist ein mittleres Molekulargewicht von 100 bis 500 kD. Die Molekulargewichte werden bestimmt durch HPLC mit nichtglobulären Eichpeptiden aus

- 4 -

Kollagen. Diese werden meist gewonnen durch Bromcyan-Abbau. Die Werte für die Molekulargewichte in der EP-B-0 254 289 wurden noch mit globulären Eichproteinen bestimmt und liegen daher deutlich höher als heute mit HPLC und nichtglobulären Eichproteinen gemessen wird.

Die erfindungsgemäß hergestellten Mittel werden vorzugsweise zubereitet als Pasten, Sirupe, Lösungen, Granulate, Komprimat oder instantisierte Pulver. Diesen Mitteln können zusätzlich zugegeben werden Geschmacksstoffe, Süßungsmittel, Mineralstoffe, Vitamine und/oder Aromastoffe.

Vorzugsweise werden sie abgepackt in Dosisform, welche 0,5 bis 12 g hydrolysiertes Kollagen enthalten.

Schließlich wurde festgestellt, daß diese Mittel besonders wirksam sind, wenn ihnen zusätzlich die bekannten Mittel zur Behandlung der Osteoporose zugegeben werden wie Calcitonin, die oben genannten Calciumsalze und/oder Progesteron.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist somit obendrein das Mittel zur Behandlung der Osteoporose enthaltend geschmacksneutrales, hydrolysiertes Kollagen aus Gelatine, Gelatine oder tierischen kollagenen Bindegewebe mit einem mittleren Molekulargewicht von 1 bis 40 kD und zusätzlich Calcitonin, Calciumsalze und/oder Progesteron.

Hydrolysiertes Kollagen kann nach den üblichen bekannten Verfahren gewonnen werden. Gelatine nach dem Verfahren, wie sie beschrieben wird in "The Science and Technology of Gelatine". A.G. Ward and A. Courts, Academic Press 1977. Die Herstellung niedrigmolekularer, kaltwasserlöslicher Kollagenhydrolysate ist beschrieben in: "Enzymatic Hydrolysis of Food Proteins" Jens Adler-Nielsen, Elsevier Applied Science Publishers, London and New York. Vorzugsweise wird enzymatisch hydrolysiertes Kollagen aus Haut eingesetzt.

- 5 -

In einer klinischen Studie mit einem bevorzugten Präparat (Gelitasol®, MG 3,5 kD) konnte jetzt festgestellt werden, daß hydrolysiertes Kollagen auch gegen Osteoporose wirksam ist. Das Ziel dieser Studie war, den Effekt festzustellen, den kollagenhydrolysatreiche Ernährung auf den Metabolismus des Knochens ausübt, und zwar ob eine kollagenhydrolysatreiche Diät zusammen mit Calcitonin einen höheren Knochen-Kollagen-Metabolismus bewirkt als alleinige Calcitoninverabreichung.

Die Ergebnisse dieser Behandlung wurden beurteilt an Hand der klinischen Befunde, Röntgenaufnahmen, Osteometrie und chemischen Untersuchungen inklusive der Bestimmung von Pyridinolin und Desoxypyridinolin im Urin.

Es wurde dafür folgende Doppelblindstudie durchgeführt:

Probanden waren Frauen über 40 Jahre mit postmenopausaler Osteoporose, bei denen nach dem Röntgenbefund und densitometrischen Bestimmungen die Knochenmasse weniger als 80 % betrug.

Folgende Exklusionskriterien kamen zur Anwendung:

- schwere Gelenk- und Bandscheibenleiden unabhängig davon, ob sie entzündlichen, stoffwechselbedingten oder degenerativen Ursprungs waren
- chronische systemische Infektionskrankheiten
- Funktionstörungen von Niere oder Leber
- intensive Osteoporosetherapie
- vorausgegangene (1 Jahr vor Studienbeginn) oder bestehende corticosteriodale Therapie
- bösartige Erkrankungen.

Patientinnen

121 Frauen nach der Menopause, die laut Röntgendiagnose eindeutig an Osteoporose litten, wurden für diese Studie ausgewählt.

- 6 -

27 dieser Patientinnen beendeten die Studie vorzeitig + hauptsächlich wegen Calcitonin-Unverträglichkeit (Übelkeit, Erbrechen, Hitzewallungen).

Therapie

Die verbliebenen 94 Patientinnen wurden in zwei randomisierte Gruppen eingeteilt, wobei zufälligerweise in jeder Gruppe je 47 für die gesamte Doppelblind-Studie übrigblieben.

Die eine Gruppe erhielt eine kollagenhydrolysatreiche Diät und wurde zusätzlich mit Calcitonin behandelt. Die andere Gruppe wurde nur mit Calcitonin behandelt und als Placebo Laktose. Die Calcitoninbehandlung wurde zweimal pro Woche durchgeführt, und zwar 100 U i.m. Die Untersuchung wurde für einen Zeitraum von 24 Wochen durchgeführt.

Die anthropometrischen und spezifischen Daten der Patientinnen sind aus Tabelle 1 und die Risikofaktoren aus Tabelle 2 zu ersehen.

Tabelle 1: Basisdaten der Probandinnen

	Calcitonin + kollagenhydrolysat	Calcitonin	Gesamt
Patientinnen	47	47	94
Alter \bar{X}	61,43	58,94	60,18
S	8,18	8,68	8,53
Größe \bar{X}	163,09	163,11	163,10
S	5,41	7,11	6,32
Gewicht \bar{X}	66,17	70,64	68,40
S	10,90	15,15	13,38
Schwangerschaften \bar{X}	1,91	1,94	1,93
S	1,15	1,10	1,12
Menses von \bar{X}	13,55	13,54	13,54
S	1,38	1,65	1,53
\bar{X}	48,74	47,17	47,96
bis S	4,87	5,81	5,42

- 7 -

Tabelle 2: Häufigkeit der Risikofaktoren in der entsprechenden Gruppe

	Calcitonin + Kollagenhydrolysat	Calcitonin	Gesamt
Patientinnen	47	47	94
Bewegungseinschränkung	30	29	59
Alkoholabusus	1	1	2
Nikotinabusus	10	9	19
Coffeinabusus	7	5	12
Chronisches Nierenleiden	0	0	0
Gastrointestinale Beschwerden	0	0	0
Hyperthyreose	3	8	11
Hyperparathyreose	0	0	0
Corticosteroide	1	0	1
Urolithiasis	2	2	4
Menstruationsbeschwerden	7	11	18
Leistungssport	7	6	11
Freizeitsport	25	16	41

Untersuchungen

Folgende Untersuchungen wurden sowohl vor Beginn als auch nach Beendigung der Studie durchgeführt und bei 61 Patientinnen drei Monate nach Beendigung der Therapie:

- Knochendichte am rechten Unterarm durch single photon absorptiometry-Messung (bei den meisten Patientinnen)
- Röntgenuntersuchung des rechten Unterarms, der Lendenwirbel oder anderer schmerzhafter Wirbelsäulen-Partien
- Serumanalysen
- Pyridinolin- und Desoxypyridinolinbestimmung im Urin
- Hydroxiprolinbestimmung im Urin.

Ergebnisse

Die Abschlußbewertung der therapeutischen Wirksamkeit wurde in einer 3-stufigen Skala bezüglich des subjektiven Befindens der Patientinnen durchgeführt. Die erhaltenen Meßwerte wurden mit STATGRAPHICS-Software (STST Inc. Rockville, MD, USA) statistisch ausgewertet. Der Einfluß von nicht linearen Variablen wurde mittels des einseitigen Varianztests berechnet. Signifikante Unterschiede wurden durch den last significance intervals range test überprüft.

Im Röntgenbild und bei den densitometrischen Messungen konnten keine Unterschiede gefunden werden, welches in Übereinstimmung mit der Veröffentlichung von Villareal et al. (Osteoporosis Int. 1992; 2: 70 - 73) steht. Die Laborwerte - mit Ausnahme von UPD/Kreatinin und U Hydroxiprolin/Kreatinin - waren zu Beginn der Studie normal und blieben während der Behandlung unverändert, siehe Tabelle 3.

Tabelle 3: Urinwerte

		Calcitonin + Kollagenhydro- lysat		Calcitonin		Gesamt	
Monate		0	6	0	6	0	6
Patientinnen		47		47		94	
BSG, 1 h	\bar{X}	18,6	15,3	18,7	17,4	18,7	18,7
Serum Calcium	\bar{X}	2,37	2,35	2,38	2,33	2,38	2,34
(mmol/l)	S	0,39	0,24	0,31	0,29	0,36	0,27
Phosphor im Serum	\bar{X}	1,18	1,29	1,17	1,25	1,18	1,27
(mmol/l)	S	0,24	0,35	0,18	0,35	0,21	0,35
S Alkal. Phosphatase	\bar{X}	1,42	1,40	1,25	1,32	1,33	1,37
(ukat/l)	S	1,24	0,69	0,45	0,65	0,93	0,68
S Saure Phosphatase	\bar{X}	0,21	0,18	0,18	0,18	0,19	0,18
(ukat/l)	S	0,13	0,17	0,05	0,21	0,10	0,19
Harncalcium	\bar{X}	0,38	0,51	0,51	0,55	0,44	0,53
(mmol/mmol creat)	S	0,35	0,39	0,95	0,92	0,72	0,70
Harnphosphat	\bar{X}	2,47	2,40	2,97	2,75	2,72	2,57
(mmol/mmol creat)	S	1,85	1,79	2,71	2,78	2,34	2,32

- 9 -

Die UPD/Kreatinin- und UDPD/Kreatinin-Ausscheidungen fielen von einem anfänglichen Durchschnittswert von 109,6 auf 61,67 nmol/mmol. Es besteht jedoch ein bedeutender Unterschied zwischen den beiden Untersuchungsgruppen. Bei der Gruppe, die mit Kollagenhydrolysat und Calcitonin behandelt wurde, waren die Ursprungswerte von UPD/Kreatinin und UDPD/Kreatinin 114,98 bzw. 23,51 nmol/mmol, und diese verringerten sich nach der Studie auf 58,62 bzw. 11,60 nmol/mmol.

In der Gruppe ohne Kollagenhydrolysat verringerten sich diese Werte um ein viel geringeres Ausmaß, nämlich UPD/Kreatinin von 104,14 auf 22,22 nmol/mmol und UDPD/Kreatinin von 64,73 auf 16,73 nmol/mmol, siehe Tabelle 4.

Im Vergleich mit gesunden Erwachsenen war die Ausscheidung der Kollagenabbauprodukte in beiden Gruppen signifikant erhöht, siehe Tabelle 5.

Tabelle 4: Urinwerte der Kollagenabbauprodukte

		Calcitonin + Kollagenhydro- lysat		Calcitonin		Gesamt	
Monate		0	6	0	6	0	6
Patientinnen		47		47		94	
Hydroxyprolin	\bar{X}	18,8	18,9	18,0	18,1	18,4	18,5
(μ mol/mmol Kreatinin)	S	10,2	13,9	12,3	9,5	11,3	12,0
Pyridinolin	\bar{X}	115,0	58,6	104,1	64,7	109,6	61,7
(nmol/mmol Kreatinin)	S	65,4	21,3	37,9	21,6	53,7	21,6
Desoxypyridinolin	\bar{X}	23,6	11,6	22,2	16,7	22,8	14,2
(nmol/mmol Kreatinin)	S	10,4	4,9	11,4	27,9	10,9	20,2
Knochendichte	\bar{X}	76,1	79,5	77,0	79,5	76,6	79,5
(%)	S	10,0	13,9	11,2	14,3	10,7	14,1

Tabelle 5: Urinwerte der Kollagenabbauprodukte - Kontrollgruppe

		Kontrollgruppe
Hydroxyprolin	\bar{X}	15,7
($\mu\text{mol}/\text{mmol}$ Kreatinin)	S	8,2
Pyridinolin	\bar{X}	41,6
(nmol/mmol Kreatinin)	S	10,6
Desoxypyridinolin	\bar{X}	8,1
(nmol/mmol Kreatinin)	S	2,8

Die relativen Veränderungen von UPD/Kreatinin, UDPD/Kreatinin und Knochendichte (KnD) sind im Diagramm 1 wiedergegeben.

Diagramm 1

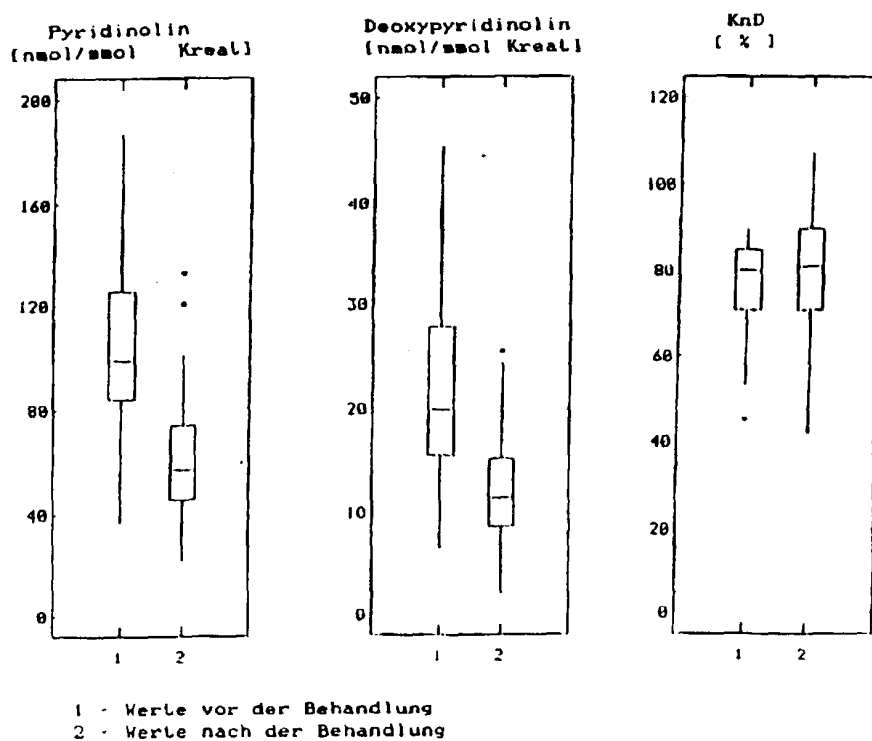
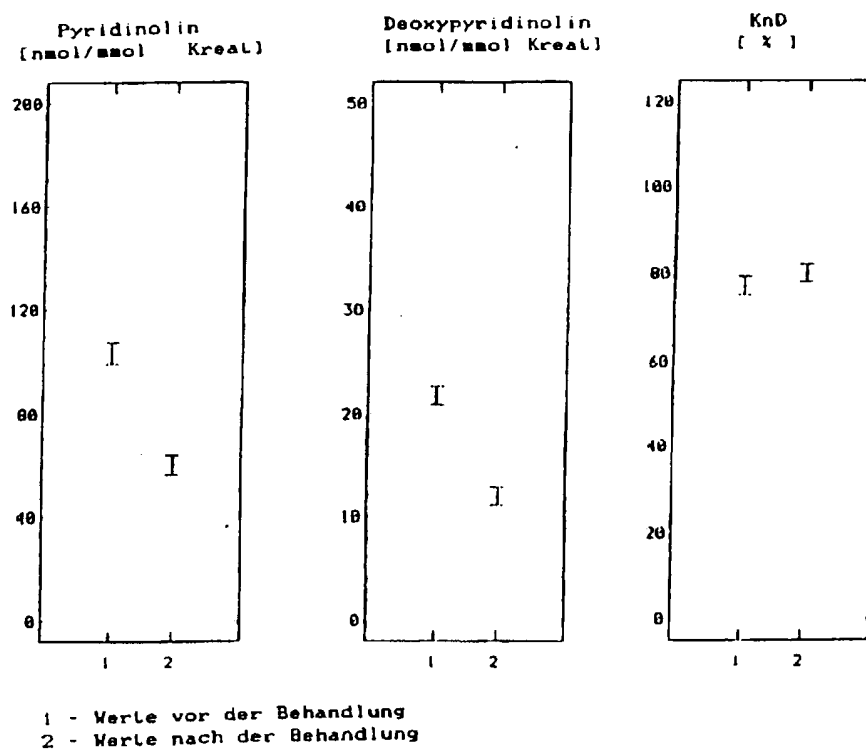


Diagramm 1: Der Einfluß der Kollagenhydrolysat - Calcitonintherapie auf die Urinausscheidung von Pyridinolin, Desoxypyridinolin und die Knochenmassendichte.

Das Diagramm 2 zeigt die statistische Signifikanz der Abnahme der beiden biochemischen Marker bei osteoporotischen Patienten im Vergleich zu den Ausgangswerten. Die Unterschiede sind signifikant (5 % level). Andererseits konnte keine Erhöhung der Knochenmassendichte festgestellt werden.

Diagramm 2

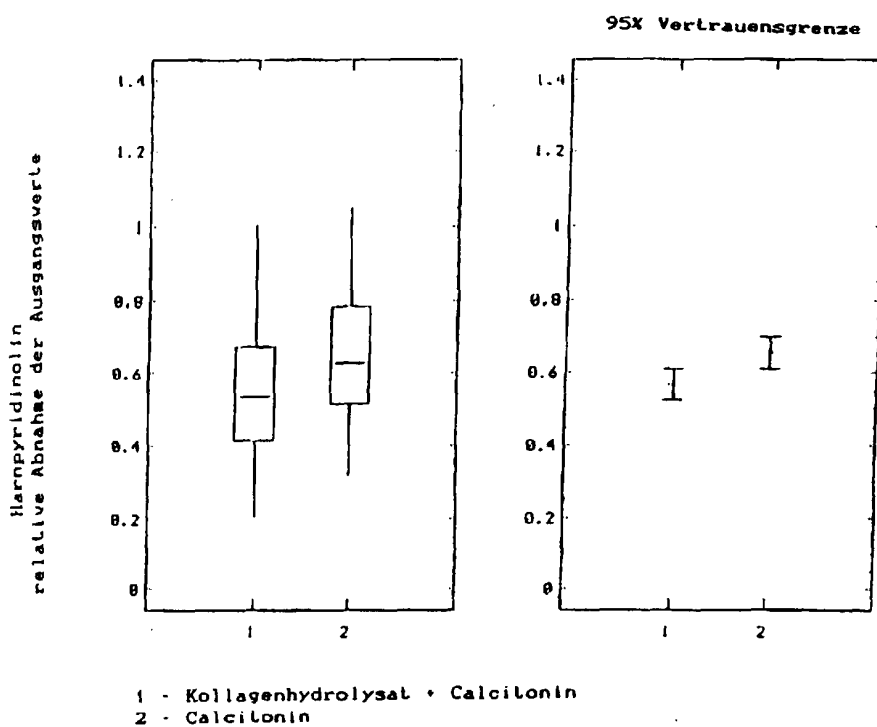


- 12 -

Diagramm 2: Statistische Signifikanz (ca. 95 %) zwischen den Werten vor und nach der Studie.

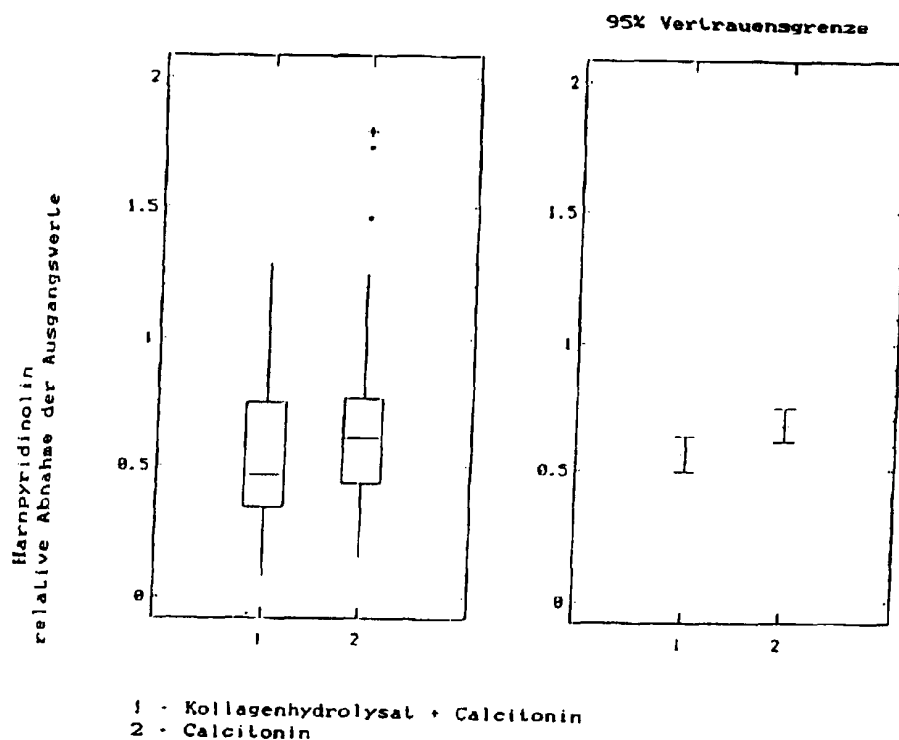
Die Diagramme 3 und 4 zeigen, daß die Therapie mit Kollagenhydrolysat ein besseres Ergebnis bringt als mit Calcitonin allein.

Diagramm 3



- 13 -

Diagramm 4



Bei Patienten, die drei Monate nach Ende der Therapie untersucht wurden, waren die Pyridinolin- und Desoxypyridinolin-Ausscheidungen im Vergleich zu den Ausgangswerten immer noch reduziert. In der Gruppe, die mit Kollagenhydrolysat behandelt war, war dies ausgeprägter als in der Gruppe, die nur Calcitonin erhalten hatte, siehe Tabelle 6.

Die Veränderungen der Pyridinolin/Kreatinin-Werte bei den mit Kollagenhydrolysat behandelten Patientinnen betrugen nach der Therapie 53,05 %, und drei Monate später sanken sie auf 49,27 %.

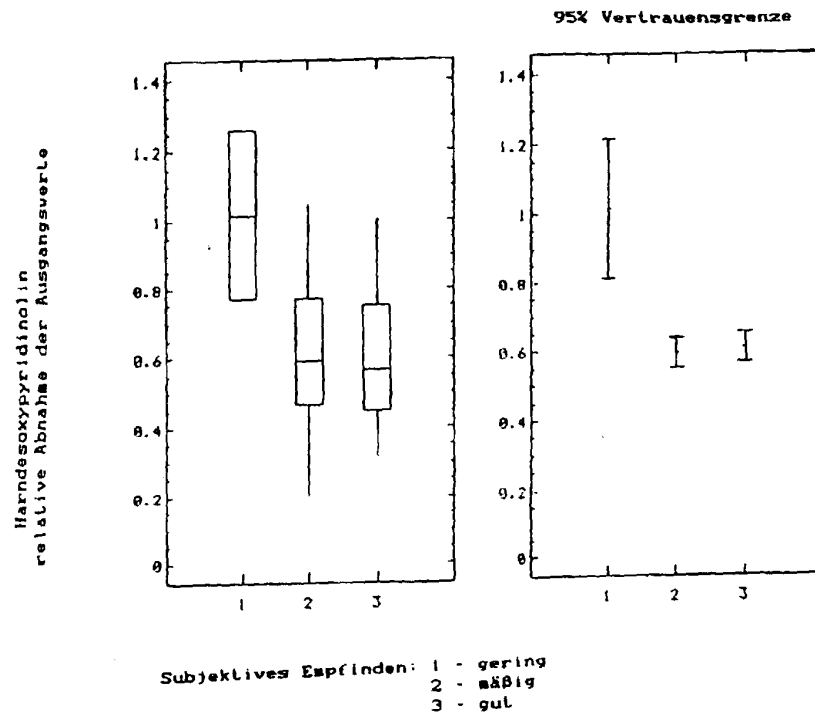
Bei mit Calcitonin allein behandelten fielen die entsprechenden Werte von 67,95 auf 67,51 %.

Die Bewertung der subjektiven Aussagen der Patientinnen über die Wirksamkeit der Therapie ergaben, daß die mit Kollagenhydrolysat behandelten eine größere Verbesserung ihres Zustandes testierten als die mit Calcitonin allein behandelten. Es ist bemerkenswert, daß die Verbesserung der subjektiven Symptome mit dem Sinken der Pyridinolin/Kreatinin- und Desoxypyridinolin/Kreatinin-Werte korreliert (siehe Diagramm 5 und 6).

Tabelle 6:

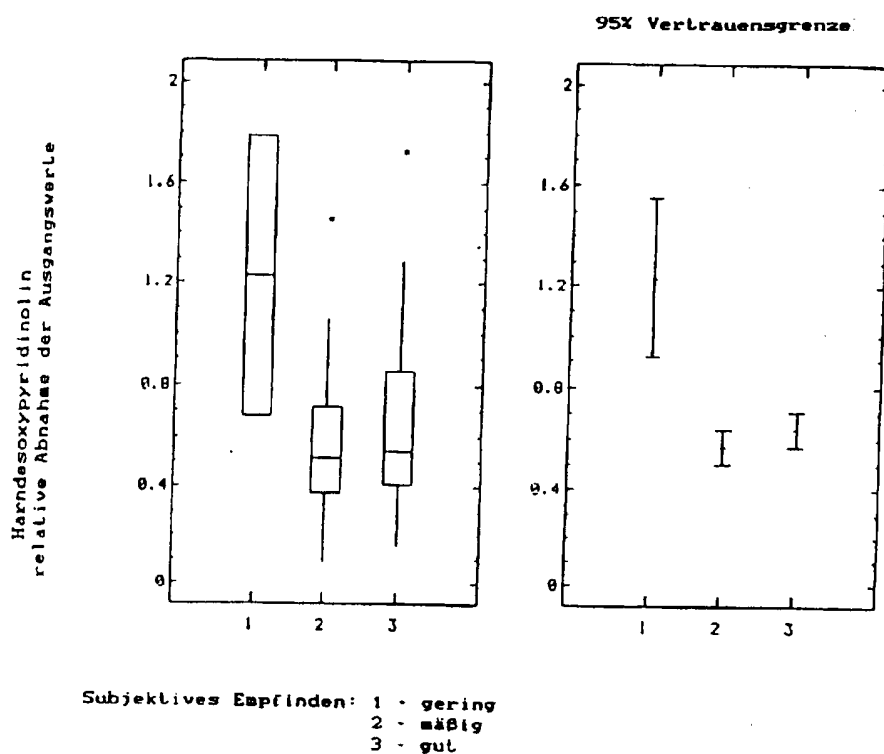
	Calcitonin + Kollagenhydrolysat			Calcitonin			Gesamt		
	0	6	9	0	6	9	0	6	9
Monate									
Patientinnen	30			30			60		
Hydroxyprolin ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$ Kreatinin)	17,7 9,6	21,1 16,0	12,8 6,1	18,1 14,4	17,1 8,0	14,0 6,2	17,9 12,2	19,1 12,7	13,4 6,2
Pyridinolin (nmol/mmol Kreatinin)	125,4 76,8	59,9 20,9	57,0 18,7	108,9 39,9	69,2 23,1	66,2 26,4	117,0 61,5	64,9 22,5	61,7 23,4
Desoxypyridin- olin ($\mu\text{mol}/\text{mmol}$ Kreatinin)	24,7 11,1	11,6 5,1	11,9 4,9	24,8 12,6	19,2 34,0	14,4 6,7	24,7 11,9	15,4 24,8	13,6 6,0
(%)	77,3	81,2	80,7	79,3	82,3	81,9	78,3	81,8	81,3
Knochendichte	8,2	12,1	11,2	9,9	13,4	14,3	9,2	12,8	12,8

Diagramm 5



Relatives Absinken der Anfangswerte der Pyridinolin-Ausscheidung im Urin nach der Therapie im Vergleich mit der subjektiven Beurteilung.

Diagramm 6



Relatives Absinken der Anfangswerte der Desoxypyridinolin-Ausscheidung im Urin nach der Therapie im Vergleich mit der subjektiven Beurteilung.

Schlußfolgerungen:

Das Kollagen des Knochens besteht ausschließlich aus Typ I, und dieses enthält einen ungewöhnlich hohen Anteil an Pyridinolin in Form von Quervernetzungen, mehr als in anderen Bindegeweben vorkommt. Da der Knochen als einziges Gewebe seine Strukturelemente in hohem Maße erneuert (Kamel et al., J. chromatogr. 1992;

574: 255 - 260) wird angenommen, daß das Pyridinolin, welches mit dem Urin ausgeschieden wird, hauptsächlich vom Knochen stammt. Diese Vermutung wird gestützt von dem molaren Verhältnis von Pyridinolin zu Desoxypyridinolin im Urin, welches normalerweise dem des Knochens entspricht.

Das Hydroxyprolin-Kreatinin Verhältnis im Urin erwies sich als nicht geeignet zur Erfassung des Knochenmetabolismus, da dieses zu stark vom Abbau des Kollagens anderer Gewebe überlagert wird sowie ebenso durch das eingenommene Kollagenhydrolysat.

Es ist bekannt, daß die Behandlung von Osteoporosepatienten mit Calcitonin den weiteren Knochenverlust vermindert, es gibt aber bisher keinen Hinweis darauf, daß eine Calcitonintherapie die Knochendichte außer bei Langzeitbehandlung erhöht. Calcitonin hat weiterhin einen analgetischen Effekt, der aber getrennt von der Wirkung auf den Knochen gesehen werden muß. Es ist bekannt, daß nur eine Langzeitbehandlung mit Calcitonin die Knochendichte erhöht. Andererseits stimuliert Gelatine die Zellproliferation in vitro, und es wurde eine positive Wirkung einer kollagenhydrolysatreichen Diät bei Patienten mit Osteoarthrose beobachtet. Darüber hinaus wurde bei diesen Patienten eine verbesserte Wundheilung, ein besseres allgemeines Wohlbefinden und eine Verminderung der Rückenschmerzen festgestellt. Als Ergebnis der Untersuchungen kann festgestellt werden, daß die kollagenhydrolysatreiche Therapie bei Osteoporose wohl auf metabolische Einflüsse zurückzuführen ist. Weiterhin ist sicher, daß die Therapie mit Kollagenhydrolysat und Calcitonin stärkere positive Effekte auf den Knochenmetabolismus zeigt als die Behandlung mit Calcitonin allein. Dies war auch noch drei Monate nach den Therapien zu beobachten.

P a t e n t a n s p r ü c h e

1. Verwendung von geschmacksneutrale, hydrolysiertem Kollagen aus Gelatine, Gelatine oder tierischem kollagenen Bindegewebe mit einem mittleren Molekulargewicht von 1 bis 40 kD zur Herstellung von Mitteln zur Behandlung von Osteoporose.
2. Verwendung gemäß Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die Mittel zubereitet werden zu Pasten, Sirupen, Lösungen, Granulaten, Komprimaten oder instantisierten Pulvern.
3. Verwendung gemäß einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß den Mitteln zusätzlich Geschmackstoffe, Süßungsmittel, Mineralstoffe, Vitamine und/oder Aromastoffe zugegeben werden.
4. Verwendung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß die Mittel in Dosisform abgepackt werden, welche 0,5 bis 12 g hydrolysiertes Kollagen enthalten.
5. Verwendung gemäß einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß die Mittel zusätzlich enthalten Calcitonin, Calciumsalze und/oder Progesteron.
6. Mittel zur Behandlung der Osteoporose enthaltend geschmacksneutrales, hydrolysiertes Kollagen aus Gelatine, Gelatine oder tierischen kollagenen Bindegewebe mit einem mittleren Molekulargewicht von 1 bis 40 kD und zusätzlich Calcitonin, Calciumsalze und/oder Progesteron.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP 95/03304

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 6 A61K38/01 A61K38/23 //(A61K38/01,31:57), (A61K38/01,33:06),
(A61K38/23,38:01)

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	CH,A,494 250 (ORSYMONDE) 15 September 1970 see column 2, line 9 - line 15 see column 3, line 8 - line 11 see column 3, line 35 - line 36 see column 6, line 11 - line 15 ---	1-6
X	CN,A,1 077 630 (HUAXIN BIOCHEMICAL TECH INST X) 27 October 1993 see the whole document ---	1-4
A	EP,A,0 254 289 (DEUTSCHE GELATINE-FABRIKEN STOESS & CO.) 27 January 1988 cited in the application see the whole document ---	1-6
	-/--	



Further documents are listed in the continuation of box C.



Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 December 1995

Date of mailing of the international search report

05.01.96

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Ryckebosch, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No.
PCT/EP 95/03304

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>ERFAHRUNGSHILFEN, vol. 28, no. 11, November 1979 HEIDELBERG, DE, pages 930-938, E. KRUG 'ZUR UNTERSTÜTZENDEN THERAPIE BEI OSTEO- UND CHONDROPATHIEN.'</p> <p>see page 934, left column, line 15 - line 23</p> <p>see page 935, left column, line 11 - line 20</p> <p>-----</p>	1-4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 95/03304

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
CH-A-494250	31-07-70	BE-A- 718683 DE-A- 1795067 FR-M- 7911 GB-A- 1227534	31-12-68 20-01-72 11-05-70 07-04-71
CN-A-1077630	27-10-93	NONE	
EP-A-254289	27-01-88	AU-B- 594488 AU-B- 7609687 CA-A- 1302880 DE-D- 3787842 ES-T- 2059328 JP-B- 6096539 JP-A- 63039821 US-A- 4804745	08-03-90 28-01-88 09-06-92 25-11-93 16-11-94 30-11-94 20-02-88 14-02-89

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 95/03304

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES

IPK 6 A61K38/01 A61K38/23 //(A61K38/01,31:57),(A61K38/01,33:06),
(A61K38/23,38:01)

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 6 A61K C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	CH,A,494 250 (ORSYMONDE) 15.September 1970 siehe Spalte 2, Zeile 9 - Zeile 15 siehe Spalte 3, Zeile 8 - Zeile 11 siehe Spalte 3, Zeile 35 - Zeile 36 siehe Spalte 6, Zeile 11 - Zeile 15 ---	1-6
X	CN,A,1 077 630 (HUAXIN BIOCHEMICAL TECH INST X) 27.Oktober 1993 siehe das ganze Dokument ---	1-4
A	EP,A,0 254 289 (DEUTSCHE GELATINE-FABRIKEN STOESS & CO.) 27.Januar 1988 in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument ---	1-6
-/--		

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderscher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

11.Dezember 1995

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

05.01.96

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Ryckebosch, A

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int.inales Aktenzeichen

PCT/EP 95/03304

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	<p>ERFAHRUNGSHILFENKUNDE, Bd. 28, Nr. 11, November 1979 HEIDELBERG, DE, Seiten 930-938, E. KRUG 'ZUR UNTERSTÜTZENDEN THERAPIE BEI OSTEO- UND CHONDROPATHIEN.' siehe Seite 934, linke Spalte, Zeile 15 - Zeile 23 siehe Seite 935, linke Spalte, Zeile 11 - Zeile 20</p> <p>-----</p>	1-4

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 95/03304

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
CH-A-494250	31-07-70	BE-A- 718683	31-12-68
		DE-A- 1795067	20-01-72
		FR-M- 7911	11-05-70
		GB-A- 1227534	07-04-71

CN-A-1077630	27-10-93	KEINE	

EP-A-254289	27-01-88	AU-B- 594488	08-03-90
		AU-B- 7609687	28-01-88
		CA-A- 1302880	09-06-92
		DE-D- 3787842	25-11-93
		ES-T- 2059328	16-11-94
		JP-B- 6096539	30-11-94
		JP-A- 63039821	20-02-88
		US-A- 4804745	14-02-89

Formblatt PCT/ISA/218 (Anhang Patentfamilie)(Juli 1992)